

工业规模发酵罐中溶氧控制对微生物生长与产物合成的影响

王 刚

天津禾润生物技术有限公司 天津 300308

摘 要：在现代生物制造领域，工业规模发酵是生产抗生素、氨基酸、有机酸、酶制剂及重组蛋白等高附加值产品的核心技术。作为好氧发酵过程中的关键限制性底物，溶解氧（Dissolved Oxygen, DO）浓度的精准调控，直接决定了微生物的生理状态、代谢流向及最终产物的产量与质量。本文系统性地阐述了工业发酵罐中溶氧传递的基本原理与影响因素，并深入剖析了不同溶氧水平对微生物生长动力学、中心碳代谢途径、能量代谢效率以及次级代谢产物合成的复杂调控机制。研究表明，溶氧不足会迫使微生物转向低效的厌氧代谢，抑制菌体生长并改变产物谱；而溶氧过量则可能引发氧化应激，损伤细胞结构并抑制特定产物的合成。基于此，文章进一步探讨了在工业实践中实现溶氧精准控制的综合策略，包括优化通气与搅拌参数、采用先进的在线监测与反馈控制技术、以及根据特定微生物和产物需求制定动态的溶氧控制曲线。本研究旨在为提升工业发酵过程的稳定性、效率与经济性提供理论依据和技术指导。

关键词：工业发酵；溶氧控制；微生物生长；产物合成；代谢调控

引言

随着合成生物学与过程工程的快速发展，微生物细胞工厂已成为全球生物制造竞争的战略核心，广泛应用于青霉素、柠檬酸、酶制剂及治疗性抗体等产品的生产。其中，好氧发酵占据主导地位，而氧气作为呼吸链末端电子受体至关重要。然而，氧气在水相中溶解度极低（25℃、1 atm 下仅约 8-9 mg/L），在复杂发酵液中更受培养基成分、代谢物和菌体影响而进一步降低；与此同时，高速生长的微生物耗氧速率常远超氧气自然溶解速率，造成严重的供需矛盾^[1]。因此，溶解氧（DO）成为工业发酵中最关键且最具挑战性的控制参数。实验室摇瓶中的简单供氧问题，在放大至数十甚至数百立方米的工业发酵罐后，演变为涉及流体力学、传质传热与微生物生理的多尺度耦合难题。DO 的微小波动可能扰动代谢网络，引发“蝴蝶效应”，导致整批发酵失败。故深入理解溶氧对微生物代谢的影响机制，并掌握其在工业尺度上的精准调控技术，是实现高效、稳定、经济发酵运行的关键。

1 工业发酵罐中的溶氧传递原理与影响因素

要有效控制溶氧，首先必须理解其在发酵体系中的传递规律。工业发酵罐中的溶氧过程本质上是一个从气相到液相再到细胞内的多步传递过程。

1.1 溶氧传递的基本模型

该过程通常遵循双膜理论，其整体传质速率

（OTR, Oxygen Transfer Rate）可由以下方程描述：

$$OTR = K_L \cdot a \cdot (C^* - C_L)$$

其中， K_L 是液膜传质系数， a 是单位体积发酵液中的气液接触面积， $K_L \cdot a$ 合称为体积溶氧传质系数，是衡量发酵罐供氧能力的核心指标。 C^* 是与气相平衡的饱和溶氧浓度， C_L 是发酵液中实际的溶氧浓度。 $C^* - C_L$ 则构成了氧从气相向液相传递的推动力。

1.2 影响溶氧传递效率的关键因素

在工业发酵罐中， $K_L \cdot a$ 和 C^* 受到多种操作参数和物理条件的显著影响。

1.2.1 通气强度

通入无菌空气（或富氧空气、纯氧）的体积流量是增加气液接触面积 a 的最直接手段。提高通气量可以显著提升 $K_L \cdot a$ ，但过高的通气量会导致泡沫剧增、逃液损失，并大幅增加空压机的能耗成本。

1.2.2 搅拌功率与桨叶设计

搅拌的作用在于打碎气泡、增加湍流、减薄液膜厚度，从而同时提高 K_L 和 a 。搅拌功率的增加与 $K_L \cdot a$ 呈正相关，但其能耗呈指数级增长。不同类型的搅拌桨（如 Rushton 涡轮桨、斜叶桨、自吸式桨）对气液分散和混合的效果各异，需根据发酵体系的流变特性（如粘度、是否含固）进行优化选择。^[2]

1.2.3 罐内压力

根据亨利定律,提高发酵罐的操作压力可以直接提升 C^* ,从而增大传质推动力 ($C^* - C_L$)。然而,加压操作对设备密封性和安全性提出了更高要求,且会增加压缩气体的成本。

1.2.4 发酵液物理性质

随着发酵的进行,菌体浓度、代谢产物(如多糖、蛋白质)的积累会显著改变发酵液的粘度、表面张力和密度,这些物理性质的变化会直接影响气泡的形成、稳定性和 $K_L \cdot a$ 的数值。例如,高粘度的发酵液会阻碍气泡的分散和氧的扩散,导致传质效率急剧下降。

1.2.5 温度

温度升高会降低氧在液体中的饱和溶解度 C^* ,但同时会加快分子运动,可能提高 K_L 。因此,温度对溶氧传递的影响是双重的,需要在满足微生物最适生长温度的前提下进行综合权衡。

2 溶氧水平对微生物生长动力学的调控作用

溶氧浓度是微生物感知环境并调整自身生理状态的重要信号,其对生长的影响呈现出典型的阈值效应和浓度依赖性。

2.1 临界溶氧浓度的概念

对于任何一种好氧微生物,都存在一个临界溶氧浓度(Critical DO Concentration)。当实际溶氧浓度 C_L 高于此临界值时,微生物的呼吸和生长速率不受氧供应的限制,能够达到其理论最大值。一旦 C_L 低于此临界值,微生物的比生长速率便会随溶氧浓度的下降而线性或非线性地降低。不同微生物的临界溶氧浓度差异很大,一般为其饱和溶氧浓度的1%至25%。例如,大肠杆菌的临界值较低,而某些放线菌或真菌的临界值则相对较高。

2.2 溶氧不足对生长的抑制机制

当 C_L 降至临界值以下,微生物细胞内的电子传递链因缺乏最终电子受体(O_2)而受阻,导致NADH等还原力无法有效再生。这不仅严重限制了通过氧化磷酸化产生ATP的效率,还会造成中间代谢物的积累,反馈抑制上游代谢途径。为了维持基本的能量供应,细胞被迫启动应急响应,从高效的有氧呼吸转向产能效率极低的发酵或无氧呼吸途径^[3]。这一转变伴随着大量副产物(如乳酸、乙醇、乙酸)的生成,这些副产物的积累会进一步降低发酵液pH,形成对细胞的二次胁迫,最终表现为菌体生长缓慢、得率系数($Y_{x/s}$)下降、菌体形态异常(如丝状菌过度分枝)等现象。

2.3 溶氧过量的潜在负面影响

虽然溶氧不足的危害显而易见,但持续维持过高的溶氧水平同样并非最优选择。一方面,这会带来巨大的能源浪费,因为通气和搅拌是发酵过程中最主要的能耗来源。另一方面,过高的氧分压会促进细胞内活性氧(ROS, Reactive Oxygen Species),如超氧阴离子(O_2^-)、过氧化氢(H_2O_2)和羟基自由基($\cdot OH$)的过量生成。这些活性氧具有极强的氧化性,会攻击细胞膜脂质、蛋白质和DNA,造成不可逆的氧化损伤,即所谓的“氧化应激”。长期处于高溶氧环境下,微生物的活力会受到抑制,甚至出现自溶现象,这对于需要在稳定期大量合成产物的发酵过程尤为不利。

3 溶氧对微生物代谢途径及产物合成的影响

如果说溶氧对生长的影响是基础性的,那么其对代谢途径和产物合成的调控则更为精细和多样化,这直接关系到发酵的最终经济价值。

3.1 溶氧对中心碳代谢流的重定向

微生物的中心碳代谢网络,特别是糖酵解(EMP)途径与三羧酸循环(TCA cycle)之间的连接,对溶氧高度敏感。充足的溶氧条件下,丙酮酸进入TCA循环被彻底氧化,产生大量ATP、NADH和FADH₂,同时为氨基酸、核苷酸等生物合成提供前体物质。然而,在限氧条件下,TCA循环活性受到抑制,代谢流被迫转向发酵途径。例如,在酵母中,丙酮酸被转化为乙醇;在大肠杆菌中,则主要生成乳酸、甲酸、乙酸和乙醇等混合酸。这种代谢流的重定向,意味着用于合成目标产物的碳源被大量分流至无价值的副产物,极大地降低了产物的得率。

3.2 溶氧对次级代谢产物合成的双重角色

许多高价值的发酵产品,如抗生素、色素、生物碱等,属于次级代谢产物。它们的合成通常发生在菌体生长的稳定期,其调控机制远比初级代谢复杂,而溶氧在其中扮演着双重甚至矛盾的角色。(1)作为直接底物:对于某些产物,氧分子本身就是其生物合成途径中的直接反应底物。例如,在青霉素的合成中,氧参与了 β -内酰胺环的形成;在甾体化合物的羟基化反应中,氧更是不可或缺的共底物。在此类情况下,维持足够高的溶氧水平是保证产物高效合成的前提^[4]。(2)作为信号分子:溶氧浓度还可以作为一种环境信号,通过调控特定转录因子的活性,来开启或关闭产物合成基因簇的表达。有趣的是,对于不同的产物,其最适的“信号”溶氧浓度可能截然不同。有些抗生素(如红霉素)的合成在高溶氧下被激活,而另一些(如四环素)则在适度限

氧的条件下产量更高。这表明,简单地将溶氧维持在高位并非万能策略,必须针对具体的产物合成途径进行深入研究。

3.3 溶氧对重组蛋白表达的影响

在利用基因工程菌(如大肠杆菌、毕赤酵母)生产重组蛋白时,溶氧控制同样至关重要。高密度培养是提高产量的基础,而这必然伴随着极高的耗氧需求。溶氧不足会导致菌体代谢失衡,积累乙酸等抑制性副产物,严重抑制外源蛋白的表达。此外,对于需要正确折叠和翻译后修饰(如二硫键形成、糖基化)的复杂蛋白,内质网等细胞器的功能高度依赖于氧化还原环境,而溶氧水平正是塑造这一环境的关键因素。因此,精确的溶氧控制是获得高产量、高活性重组蛋白的必要条件。

4 工业规模下溶氧精准控制的综合策略

将上述理论认知转化为工业实践,需要一套系统性的、动态的溶氧控制策略。

4.1 基于过程特性的静态与动态控制

传统的溶氧控制多采用设定一个固定阈值(如30%空气饱和度)的恒定控制模式。然而,这种“一刀切”的方法忽略了微生物在不同生长阶段对氧需求的动态变化。更先进的策略是采用动态溶氧控制曲线。例如,在菌体快速生长期(对数期),将溶氧设定在较高水平(如40%-50%)以支持最大生长速率;当进入产物合成期(稳定期)时,则根据产物合成的最适溶氧要求,将设定点调整至一个新的、可能是更高或更低的水平。这种与微生物生理周期相匹配的控制方式,能够实现资源的最优分配。

4.2 先进过程控制(APC)技术的应用

随着传感器技术和自动化水平的提升,更智能的控制方法得以应用。级联控制是一种常用策略,它将溶氧控制器的输出作为搅拌转速或通气流量控制器的设定值,通过调节这两个执行机构来共同维持DO稳定。面对发酵液流变特性随时间剧烈变化的挑战,自适应控制算法能够在线估计过程模型参数(如 $K_L \cdot a$)的变化,

并自动调整控制器参数,从而保持良好的控制性能。此外,结合在线生物量、尾气分析(OUR,CER)等多参数信息,可以构建更全面的过状态观测器,为溶氧控制提供更前瞻性的决策依据。

4.3 强化传质的工程措施

除了控制策略,从工程角度强化氧的传递也是根本之策。这包括优化发酵罐的高径比、采用多层搅拌桨组合、使用高效节能的搅拌器(如翼型轴流桨)、在罐内设置挡板以改善流场等。对于极高耗氧的发酵过程,还可以考虑采用富氧空气或纯氧补给,或者引入膜曝气等新型供氧技术,以突破传统鼓泡供氧的传质极限。

5 结语

在工业发酵中,溶氧控制不仅是操作参数调节,更是关乎微生物生理、代谢调控与过程放大的核心科学问题。本文阐明溶氧浓度通过影响能量代谢、中心碳流及合成途径,对菌体生长和产物形成起决定性作用:溶氧不足抑制生长并偏移代谢流向,过量则引发氧化损伤与能源浪费。因此,高效发酵需基于对微生物及其合成路径的深入理解,并结合先进传感、智能算法与高效装备,构建综合溶氧管理策略。未来趋势在于多尺度、多参数融合,通过整合组学数据与在线过程信息,建立数字孪生模型,实现发酵过程的全景洞察与预测性控制。届时,溶氧控制将从被动响应转为主动引导,成为精准指挥细胞工厂高效生产的“指挥官”,助力生物制造向智能化、绿色化与经济性升级。

参考文献

- [1] 于欣灵. 微生物发酵技术在食品工业中的应用与展望[J]. 食品安全导刊,2025,(13):169-171+175.
- [2] 赵宇,陈忠敏. 微生物发酵过程中溶氧的影响及其调控[J]. 重庆理工大学学报(自然科学版),2024.
- [3] 张丽华,王磊. 溶解氧对好氧发酵过程的影响及控制策略[J]. 生物工程学报,2020,36(4):621-630.
- [4] 李强,刘芳. 工业发酵中溶解氧动态变化及其对次级代谢产物合成的调控[J]. 中国抗生素杂志,2021,46(7):589-595.